



北海道公立大学法人
札幌医科大学
Sapporo Medical University

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title 論文題目	Early administration of galantamine from preplaque phase suppresses oxidative stress and improves cognitive behavior in APPswe/PS1dE9 mouse model of Alzheimer's disease (アルツハイマー病モデルマウスに対するプレプラーク期からの早期ガランタミン投与は酸化ストレスを抑制し認知行動を改善する)
Author(s) 著 者	齋藤, 太郎
Degree number 学位記番号	甲第 3083 号
Degree name 学位の種別	博士 (医学)
Issue Date 学位取得年月日	2020-03-31
Original Article 原著論文	Free Radical Biology and Medicine. 2019; 145: 20-32
Doc URL	
DOI	
Resource Version	Author Edition

学位論文の内容の要旨

報 告 番 号	甲第 3083 号	氏 名	齋藤 太郎
<p>論文題名</p> <p>Early administration of galantamine from preplaque phase suppresses oxidative stress and improves cognitive behavior in APPswe/PS1dE9 mouse model of Alzheimer's disease(アルツハイマー病モデルマウスに対するプレプラーク期からの早期ガランタミン投与は酸化ストレスを抑制し認知行動を改善する)</p> <p>研究目的</p> <p>アルツハイマー病(AD)ではアミロイドβ(Aβ)がその前駆体である amyloid precursor protein から切り出され異常凝集し、神経細胞を障害する過程が AD 病態の根本であると考えられており、アミロイド仮説と呼ばれている。また、AD 分子病態においては脳内炎症の関与が重要であるとも考えられてきており、Aβ沈着が炎症を惹起させ、シナプス障害や神経細胞障害を進めるとされている。今回我々は、AD モデルマウスに対して、アセチルコリンエステラーゼ阻害作用とニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)に対する allosteric potentiating ligand 作用を持つ薬剤であるガランタミンをアミロイド沈着が始まる前という早期の段階から投与することにより、早期治療介入の有効性を明らかにすることを目的とした。また、我々は脳内酸化ストレス動態を非侵襲的に評価することが可能な電子常磁性共鳴(electron paramagnetic resonance; EPR)技術を用いたイメージング法を用いることにより、脳内酸化ストレス動態の評価を行った。</p> <p>研究方法</p> <p>本研究では、アミロイド前駆体タンパク質(amyloid precursor protein; APP)の Sweden 型変異 (APPswe)と Presenilin1(PS1)の欠損変異 (PS1dE9)を過剰発現させた APPswe/PS1dE9 マウス(以下、AD マウス)を使用した。また、同胞のマウスで APPswe/PS1dE9 変異を持たないものを WT マウスとして使用した。使用薬剤としては、アルカロイドの一種であるガランタミンを使用した。蒸留水にガランタミンを溶解し、5 mg/kg/day となるように経口投与した。ガランタミン非投与群、生後 6 ヶ月から 3 ヶ月間ガランタミンを投与する群(early plaque phase)、生後 3 ヶ月から 6 ヶ月間ガランタミンを投与する群(preplaque phase)を用意した。生後 9 か月目に行動評価と EPR イメージングを行った。脳摘出後、抗 Aβマウスモノクローナル抗体(5,000 倍)、抗 Iba1 ラビットモ</p>			

ノクローナル抗体(5,000 倍), 抗 GFAP マウスモノクローナル抗体(5,000 倍), 抗シナプトフィジンマウスモノクローナル抗体(1,000 倍)を用いた免疫染色を行った. 分子発現の半定量として ELISA 法を用いて, A β , 炎症性サイトカイン, 酸化ストレスマーカーの一種である Malondialdehyde(MDA)の測定を行った. また, 脳組織から mRNA を抽出し, cDNA を作成した. 作成した cDNA の炎症性サイトカインの発現量を qRT-PCR 法にて解析した.

研究成績及び考察

行動評価では, 生後 3~9 ヶ月投与群と生後 6~9 ヶ月投与群で共に, 非投与群と比較して有意差をもって行動記憶の改善を認めた. EPR イメージング法では, 生後 3~9 ヶ月投与群で非投与群と比較して有意に皮質の酸化ストレスが抑制されていた. MDA も EPR イメージング法と同様の結果であった. 病理学的評価として行った免疫染色では, 抗 A β 抗体を用いた染色にてガラントミン投与群で非投与群と比較して有意に A β 沈着が減少していた. また, 抗 Iba1 抗体, 抗シナプトフィジン抗体による比較では生後 3~9 ヶ月投与群で非投与群と比較して有意差を認めた. 生化学的評価として, ELISA 法を用いた A β の測定を行い, 不溶性分画の A β 42 が生後 3~9 ヶ月投与群で非投与群と比較して有意差をもって減少していた. 炎症性サイトカイン測定では, IL1- β が生後 3~9 ヶ月投与群で非投与群と比較して有意差をもって減少していた. 酸化ストレスマーカーである MDA も生後 3~9 ヶ月投与群で非投与群と比較して有意差をもって減少していた.

本研究では, ガラントミンの早期投与によって認知機能改善や A β 病理の抑制だけでなく, ミクログリア活性の抑制や脳内酸化ストレスの抑制が認められた. これは, ガラントミンが病態修飾作用を有していることを示唆しており, その機序として, 我々は A β 貪食に関与しているミクログリアのガラントミンによる α 7nAChR の刺激が A β の貪食を亢進させ, これが疾患修飾として有効であると考えている. 更に, ガラントミンによる脳内酸化ストレスの抑制もまた AD 病態の改善に関与していると考えている.

結論

本研究にて, AD モデルマウスに対する早期のガラントミン投与の有効性と EPR イメージングを用いた酸化ストレス動態評価の有用性を明らかにした. ガラントミンの A β 沈着前という早期からの投与により AD の予防および治療に有効である可能性があり, 実臨床への応用が期待される. また, EPR イメージングは脳内の酸化ストレス動態を生体で素早く, 繰り返し評価することが出来るため, AD モデル動物に対する新規薬剤の有効性の評価にも応用できる.

論文審査の要旨及び担当者

(令和 2 年 3 月 31 日授与)

報告番号	甲第 3083 号	氏 名	齋藤 太郎
論文審査 担 当 者	主査 教授 下濱 俊	副査 教授 長峯 隆	
	副査 教授 三國 信啓	委員 教授 石合 純夫	

論文題名	Early administration of galantamine from preplaque phase suppresses oxidative stress and improves cognitive behavior in APPswe/PS1dE9 mouse model of Alzheimer’s disease
<p>結果の要旨</p> <p>本研究では、ガランタミンの早期投与によって認知機能改善や Aβ 病理の抑制だけでなく、ミクログリアの活性制御や脳内酸化ストレスの抑制が認められた。特に、preplaque 期からのガランタミン投与が脳内酸化ストレスの抑制を始めとした AD 病理の改善に有効であった。この結果は、ガランタミンが病態修飾作用を有していることを示唆しており、ミクログリアの活性抑制や脳内酸化ストレスの抑制が病態修飾作用に関与していると考えられた。Aβ 沈着が増加し、慢性炎症の負のカスケードが始まる前の段階の preplaque 期からのガランタミン介入開始がより有効であると考えられた。</p> <p>本研究にて、AD モデルマウスに対する早期のガランタミン投与の有効性と EPR イメージングを用いた酸化ストレス動態評価の有用性を明らかにした。ガランタミンは早期からの投与、特に Aβ の沈着が始まる前の時期からの投与が AD の予防および治療に有効である可能性があり、実臨床への応用が期待される。また、EPR イメージングは脳内の酸化ストレス動態を生体で素早く、繰り返し評価することが出来るため、AD モデル動物に対する新規薬剤の有効性の評価にも応用できると考えられた。</p> <p>以上より、本論文は博士（医学）の学位授与に値すると審査委員全員の評価を頂いた。</p>	